

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 27 AVR. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

**DOCUMENT DE PRIORITÉ**

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
www.inpi.fr



26 bis, rue de Saint Pétersbourg - 75800 Paris Cedex 08

Pour vous informer : INPI DIRECT

0 825 83 85 87

0,15 € TTC/min

Télécopie : 33 (0)1 53 04 52 65

Réservé à l'INPI

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*03

## REQUÊTE EN DÉLIVRANCE page 1/3



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 @ W / 030103

<b>REMISE DES PIÈCES</b> DATE <b>25 AVRIL 2003</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b> N° D'ENREGISTREMENT <b>0305108</b> NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>25 AVR. 2003</b>		<b>1</b> NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE  <b>Cabinet REGIMBEAU</b> <b>20, rue de Chazelles</b> <b>75847 PARIS CEDEX 17</b> <b>FRANCE</b>	
<b>Vos références pour ce dossier</b> (facultatif) <b>240537 D21172 CMG</b>			
<b>Confirmation d'un dépôt par télécopie</b>		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
<b>2</b> NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
ou demande de certificat d'utilité initiale		N° _____ Date _____	
Transformation d'une demande de brevet européen		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
<b>3</b> TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)  Procédé de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide à pression supercritique			
<b>4</b> DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
<b>5</b> DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale		ETHYPHARM	
Prénoms			
Forme juridique		SOCIETE ANONYME	
N° SIREN		311999833	
Code APE-NAF			
Domicile ou siège	Rue	21, rue Saint-Mathieu 78550 HOUDAN	
	Code postal et ville		
	Pays	FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
Adresse électronique (facultatif)			
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2<sup>ème</sup> page

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**

Page suite N° 212.

**SUITE**

**REMISE DES PIÈCES**  
**DATE**  
**LIEU** 25 AVRIL 2003  
75 INPI PARIS  
**N° D'ENREGISTREMENT**  
**NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI** 0305108

Réservé à l'INPI

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 829 W / 140301

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>		240537 - CMG
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ</b>		Pays ou organisation
<b>OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE</b>		Date
<b>LA DATE DE DÉPÔT D'UNE</b>		Pays ou organisation
<b>DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Date
		Pays ou organisation
		Date
<b>5 DEMANDEUR</b>		
Nom ou dénomination sociale		CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS)
Prénoms		
Forme juridique		
N° SIREN		ETABLISSEMENT PUBLIC A CARACTERE SCIENTIFIQUE ET TECHNO...
Code APE-NAF		
Adresse	Rue	304981310
	Code postal et ville	3, rue Michel Ange, 75016 PARIS
	Pays	
Nationalité		FRANCE
N° de téléphone (facultatif)		Française
N° de télécopie (facultatif)		
Adresse électronique (facultatif)		
<b>5 DEMANDEUR</b>		
Nom ou dénomination sociale		
Prénoms		
Forme juridique		
N° SIREN		
Code APE-NAF		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
	Pays	
Nationalité		
N° de téléphone (facultatif)		
N° de télécopie (facultatif)		
Adresse électronique (facultatif)		
<b>10 SIGNATURE DU DEMANDEUR</b>		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE</b> <b>OU DE L'INPI</b>
<b>OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire)		

**BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ**

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**  
page 3/3

**BR2**

REMISE DES PIÈCES  
DATE **25 AVRIL 2003**  
LIEU **75 INPI PARIS**  
N° D'ENREGISTREMENT **0305108**  
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 030103

<b>6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)</b>		240537 CMG	
Nom			
Prénom			
Cabinet ou Société		Cabinet REGIMBEAU	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	20, rue de Chazelles	
	Code postal et ville	75017 PARIS CEDEX 17	
	Pays		
N° de téléphone (facultatif)		01 44 29 35 00	
N° de télécopie (facultatif)		01 44 29 35 99	
Adresse électronique (facultatif)		info@regimbeau.fr	
<b>7 INVENTEUR (S)</b>		Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques	
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)	
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>		Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)		Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>		Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG [ ] [ ] [ ] [ ] [ ]	
<b>10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS</b>		<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint		<input type="checkbox"/>	
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe		<input type="checkbox"/>	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
<b>11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)</b>		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b>	

5 La présente invention concerne un procédé de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide supercritique.

De nombreux procédés industriels, et notamment dans le domaine de la pharmacie, utilisent des dispersions de particules solides dans un solvant organique ou des émulsions d'un milieu aqueux dans un solvant organique. On citera  
10 notamment des procédés d'encapsulation par coacervation d'un agent de revêtement dissous dans un solvant organique provoquant le dépôt de cet agent de revêtement à la surface des particules en suspension dans la solution organique, ainsi que les procédés d'émulsion-extraction du solvant ou double émulsion.

Ces procédés font appel à de larges quantités de solvants organiques comme  
15 des solvants halogénés et sont accompagnés d'un coût environnemental important. Dans le domaine de la pharmacie, ces procédés nécessitent de mettre en place des méthodes de contrôle des solvants résiduels et éventuellement de réduction de la teneur en solvant résiduel des formulations pharmaceutiques. La tendance est à réduire ou même supprimer ces solvants dans les procédés destinés à la production  
20 de formulations pharmaceutiques. Il faut enfin ajouter que de nombreux principes actifs pharmaceutiques, comme par exemple les protéines thérapeutiques, peuvent être dénaturés par contact avec un solvant organique.

Le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) à pression supercritique connaît des applications croissantes pour de nombreux procédés où il se substitue  
25 avantageusement aux solvants. Contrairement aux dispersions dans un solvant organique, les propriétés uniques du  $\text{CO}_2$  à pression supercritique permettent, dans le cas de dispersions dans le  $\text{CO}_2$  à pression supercritique, de procéder à une séparation des phases par simple décompression du milieu, conduisant ainsi à une récupération aisée des substances préalablement dispersées. Ces substances sont de plus exemptes  
30 de solvant organique résiduel. La formation de dispersions dans le  $\text{CO}_2$  à pression supercritique doit donc offrir des possibilités avantageuses de substitution des

solvants organiques dans des procédés industriels majeurs comme les séparations, les réactions ou les procédés de formation de matériaux spécifiques et notamment les procédés conduisant à des formulations pharmaceutiques sous forme de poudres.

Le demandeur s'est attaché à développer des procédés alternatifs sans solvant organique utilisant les propriétés avantageuses du CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Le CO<sub>2</sub> à pression supercritique désigne ici du CO<sub>2</sub> porté à une pression voisine ou supérieure à sa pression critique (7,38 MPa). Il peut alors être soit à l'état liquide soit à l'état supercritique. Le brevet EP 0 784 506 B1 a pour objet un procédé de préparation de microparticules constituées de particules solides non solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique enrobées par un agent de revêtement soluble dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. L'étape clé de ce procédé est le dépôt de l'agent de revêtement sur les particules en suspension dans le fluide supercritique par modification contrôlée de la température et/ou de la pression du fluide supercritique. Les particules à enrober sont classiquement dispersées dans le fluide supercritique par agitation. Les améliorations apportées au procédé précité ont conduit le demandeur à rechercher des moyens d'améliorer les propriétés de dispersions de particules dans le fluide supercritique, avec l'objectif principal de stabiliser la dispersion et ainsi de diminuer les phénomènes d'agglomération des particules provoqués par une difficulté à disperser de manière homogène et stable des particules hydrophiles ou hydrosolubles dans le fluide à pression supercritique.

Les dispersions de particules solides sont réputées stables, si au cours du temps et sous l'effet des différentes interactions qui règnent dans le système dispersé, les particules restent individuelles, ne forment pas d'agrégats, réversibles ou irréversibles, et que la concentration en particules reste homogène en tout point du milieu dispersant, c'est-à-dire qu'aucune séparation de phase n'apparaît. Une perte de stabilité conduit le plus souvent d'abord à la formation d'agrégats de particules (floculation, coagulation) liée à l'apparition de forces attractives entre les particules, et ensuite à une séparation de phase (sédimentation ou crémage) due à la différence de densité entre les agrégats de grande taille ainsi formés et le milieu dispersant (effet de synérèse). Les mécanismes de stabilisation des dispersions de particules solides sont connus de l'homme de l'art et décrits dans les articles de référence de

R.H. Ottewill (*Journal of Colloid & Interface Science*, Vol. 58, N° 2, pp 357-373, Février 1977) et de J.Th.G. Overbeek (*Journal of Colloid & Interface Science*, Vol. 58, N° 2, pp 408-422, Février 1977). Ils font intervenir les interactions électrostatiques, lorsque les particules sont porteuses de charges électriques à leur surface qui induisent des répulsions entre elles et empêchent la formation d'agréats.

5 Dans le cas de particules non porteuses de charges électriques, une stabilisation stérique des dispersions peut être obtenue en introduisant des chaînes polymères neutres (non ioniques), de longueur bien choisie, à la surface des particules. Ces chaînes peuvent être soit fixées chimiquement, soit adsorbées à la surface ou

10 implantées physiquement dans la couche de surface des particules solides dispersées. Elles doivent également présenter une partie soluble en bon solvant dans la phase dispersante. Ces chaînes présentent ainsi un certain caractère tensioactif ou surfactant. La notion de stabilisation stérique a été introduite initialement par W. Heller et T.L. Pugh en 1954 (*Journal of Chemical Physics*, Vol. 22, p 1778, 1954).

15 La stabilisation est générée d'une part par les forces de répulsion liées à l'enthalpie de mélange des chaînes stabilisantes en bon solvant, et d'autre part par l'élasticité de la couche de polymère formée à la surface des particules solides (origine entropique). Les contributions relatives de ces deux mécanismes dépendent principalement de la température, du caractère bon ou mauvais solvant de la phase dispersante, de la

20 densité et de l'épaisseur de la couche de polymère stabilisante. Une revue complète des mécanismes de stabilisation stérique est donnée dans l'article de référence de D.H. Napper (*Journal of Colloid & Interface Science*, Vol. 58, N°2, pp390-407, 1977). Un exemple de dispersion de particules hydrophobes (polyacrylonitrile), stabilisées stériquement dans un solvant organique hydrophobe (toluène) par des

25 chaînes de polystyrène adsorbées à leur surface, a été donné par A. Doroszowski et R. Lambourne (*Journal of Colloid & Interface Science*, Vol. 43, p 97, 1973). Plusieurs exemples de dispersions de particules solides hydrophiles (poly(12hydroxy-acide stéarique), poly(oxyéthylène)) dans des solvants organiques non aqueux (n-heptane, méthanol) ont été donnés par D.H. Napper (*Journal of Colloid & Interface Science*, Vol. 58, N°2, pp390-407, 1977). Des particules inorganiques, denses et hydrophiles,

30 d'oxyde de fer ont aussi été dispersées et stabilisées stériquement dans la

cyclohexanone par des chaînes de polyamide adsorbées à leur surface (T. Sato, *Journal of Coatings Technology*, Vol. 65, N° 825, pp113-121, 1993).

La plupart des surfactants commerciaux ne sont pas solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique (Consani *et al.*, *Journal of Supercritical Fluids*, 3 (1990) 51-65) et ne peuvent donc pas être utilisés pour stabiliser des dispersions dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. De rares surfactants solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique sont toutefois décrits dans la littérature. Il est bien connu que la majorité des polymères n'est pas soluble dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique à des températures compatibles avec des procédés destinés à la production de formulations pharmaceutiques (Kirby C.F. and McHugh, *Chemical Review*, 99 (1999) 565-602). Quelques familles de polymères CO<sub>2</sub>-philes sont sensiblement solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique. Ces polymères sont majoritairement des polymères fluorés (Newman D.A. *et al.*, *Journal of Supercritical Fluids*, 6 (1993) 205-210) comme les poly(fluoroéthers), les poly(fluoroacrylates), les poly(fluorométhacrylates), des silicones comme les poly(diméthyl siloxanes) (Hoeftling *et al.*, *Journal of Supercritical Fluids*, 6 (1993) 164-171), ou des poly(éther-carbonates) (Sarbu *et al.*, *Nature*, 405 (2000) 165-167).

Des polymères CO<sub>2</sub>-philes ont été utilisés pour synthétiser des surfactants utilisables dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Il s'agit soit de polymères CO<sub>2</sub>-philes fonctionnalisés de manière à augmenter leur affinité pour les substances à disperser, soit de copolymères comportant des chaînons choisis parmi les polymères solubles dans le CO<sub>2</sub> (CO<sub>2</sub>-solubles) préalablement décrits. Les applications principales de ces surfactants sont des procédés de polymérisation en dispersion dans le CO<sub>2</sub> supercritique où ces surfactants permettent une stabilisation stérique des particules de polymères en cours de formation. Les chaînons destinés à interagir avec les particules de polymère en formation sont des chaînons hydrophobes comme par exemple des polystyrènes, des poly(vinyl acétates) ou des poly(méthyl méthacrylates).

Ces composés sont tous des surfactants du type CO<sub>2</sub>-phile/hydrophobe. Ils ne sont donc pas utilisables pour stabiliser des dispersions de substances hydrophiles liquides ou solides dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique, car ils sont dépourvus d'une



partie hydrophile pouvant interagir avec des matériaux hydrophiles et se fixer à leur surface.

Des surfactants CO<sub>2</sub>-philes à tête ionisable ont été synthétisés et évalués pour la formation d'émulsions d'eau dans le CO<sub>2</sub> supercritique. Ces composés sont constitués d'une partie CO<sub>2</sub>-phile, comme des polymères fluorés ou des poly(siloxanes) et d'une courte tête ionisée pouvant interagir électrostatiquement avec la phase aqueuse à disperser. Ces surfactants ont, dans certains cas particuliers, permis la formation d'émulsions ou de microémulsions d'eau dans le CO<sub>2</sub> supercritique (Hoeffling T.A. *et al.*, *Journal of Physical Chemistry*, 95 (1991) 7127-7129). Ils ne sont toutefois pas utilisables pour stabiliser des dispersions de particules solides hydrophiles dans le CO<sub>2</sub> supercritique, c'est à dire dans un milieu non aqueux. La stabilisation de telles dispersions nécessite en effet une interaction forte du surfactant avec la surface des particules à disperser permettant la fixation permanente des surfactants polymères à leur surface. Elle est hors de portée des surfactants portant une courte tête polaire ionisable, qui est de plus non ionisée dans un milieu non aqueux.

Des tentatives de stabilisation stérique de substances inorganiques comme des particules de silice hydrophile ont été publiées (L. Calvo *et al.*, *Journal of Supercritical Fluids*, 16 (2000) 247-260). Il est démontré dans cette étude que l'utilisation de surfactants solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique, comme un perfluoropolyéther portant une courte tête ionique carboxylate d'ammonium, ou un copolymère polystyrène-poly(1,1-dihydro-perfluorooctylacrylate), ou encore un copolymère poly(méthyl méthacrylate-co-hydroxyéthyl méthacrylate) greffé par des polymères polyfluoropolyéther, ne permet pas la stabilisation stérique de particules de silice hydrophile d'une taille supérieure à 1,2 µm dans le CO<sub>2</sub> supercritique à partir d'une dispersion de particules polydispersées (distribution granulométrique large) de silice d'une taille moyenne de 3µm dont 90% ont une taille supérieure à 1,5 µm. Si une suspension des particules de plus faible diamètre, compris entre 0,7 et 1,2 µm, est stabilisée sur une courte durée, seule une infime fraction, inférieure à 2,5%, de la masse de particules de silice à disperser peut être stabilisée par ces surfactants. Ces surfactants, pourtant solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique et capables de stabiliser

des dispersions de substances hydrophobes dans le CO<sub>2</sub> supercritique, ne permettent donc pas de stabiliser de manière efficace des dispersions de particules de silice hydrophile dans le CO<sub>2</sub> supercritique.

5 L'ensemble des surfactants CO<sub>2</sub>-philes actuellement connu ne permet donc pas de préparer des dispersions stables de substances solides hydrosolubles ou hydrophiles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

10 Les inventeurs ont trouvé de manière surprenante que l'utilisation de copolymères à blocs composés d'un bloc CO<sub>2</sub>-phile et d'un bloc hydrophile non ionique, de composition et de masse molaire adaptées, permettent de préparer des dispersions stables de substances hydrophiles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

15 La présente invention concerne l'utilisation de surfactants spécifiquement conçus pour préparer des dispersions stables de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide à pression supercritique. Ces substances sont à l'état solide ou liquide dans les conditions de température et de pression du procédé et sont constituées de matières majoritairement hydrosolubles ou hydrophiles et non solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

20 Le demandeur a conçu et synthétisé de nouveaux copolymères à blocs comprenant un bloc CO<sub>2</sub>-phile et un bloc hydrophile non ionique. Ces copolymères se sont révélés aptes à stabiliser des dispersions de particules solides hydrophiles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Ils peuvent être notamment employés pour améliorer le procédé d'encapsulation décrit dans le brevet EP 0 784 506 B1. Les copolymères blocs sont utilisés à la fois comme agents de stabilisation de la dispersion de particules hydrophiles et/ou comme agent de revêtement. Ces copolymères peuvent aussi être employés comme surfactants pour stabiliser une  
25 dispersion de particules à enrober, en conjonction avec des agents de revêtement classiquement utilisés dans le procédé précité comme des lipides, des cires, des polymères ou tout composé suffisamment soluble dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique et utilisable dans la mise en œuvre du procédé précité.

30 Il a été découvert dans le cadre de la présente invention que ces surfactants particuliers peuvent aussi être utilisés pour la formation et la stabilisation stérique d'émulsions d'eau ou de solutions aqueuses dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

Le procédé objet de l'invention est particulièrement adapté à la production de formulations pharmaceutiques dont les procédés d'obtention comprennent une étape de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un milieu dispersant constitué de CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

5 Le milieu dispersant est du CO<sub>2</sub> porté à une pression voisine ou supérieure à la pression critique (7,38 MPa), de préférence entre 5 MPa et une pression de 70 MPa, encore plus préférentiellement entre la pression critique et une pression de 30 MPa. La température est comprise entre 0°C et 100 °C, et de préférence entre 15°C et 60°C.

10 Le milieu dispersant peut éventuellement contenir un entraîneur. Au sens de la présente invention, un entraîneur est défini comme une substance volontairement ajoutée au fluide supercritique en petites quantités, de manière à augmenter la solubilité d'une ou plusieurs substance(s) dans le dit fluide supercritique. Quand un tel entraîneur est présent en petite quantité dans le fluide supercritique (environ <5  
15 %), cette quantité est si faible qu'elle est essentiellement sans effet sur les conditions nécessaires à l'entrée dans l'état supercritique du composant principal du fluide supercritique, mais augmente beaucoup la solubilité du matériau polymère. A titre d'exemple, on peut utiliser comme entraîneur, les cétones, les alcools, les esters et les solvants chlorés ou d'autres solvants organiques et les plastifiants. De tels  
20 entraîneurs sont particulièrement utilisés lorsque le polymère est peu soluble dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

---

Dans le cas de dispersions de substances solides dans les conditions du procédé, les particules à disperser sont constituées d'un matériau hydrophile ou hydrosoluble, non soluble dans le fluide à pression supercritique, de préférence des  
25 particules contenant un principe actif.

Des substances hydrosolubles ou hydrophiles, ou incluses dans des particules majoritairement hydrosolubles ou hydrophiles, peuvent être dispersées dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique par le procédé objet de l'invention. Des principes actifs hydrophiles ou des principes actifs solubilisés ou dispersés dans une matrice  
30 hydrosoluble ou hydrophile sont particulièrement employés dans la formation de dispersions par le procédé de l'invention.

Parmi les principes actifs, on peut citer de manière non exhaustive, (i) les produits pharmaceutiques, notamment les analgésiques, les antipyrétiques, l'aspirine et ses dérivés, les antibiotiques, les anti-inflammatoires, les antiulcéreux, les antihypertenseurs, les neuroleptiques, les antidépresseurs, les oligonucléotides  
 5 présentant une activité thérapeutique, les peptides présentant une activité thérapeutique et les protéines présentant une activité thérapeutique, (ii) les produits cosmétiques, notamment les autobronzants et les anti-UV, (iii) les produits alimentaires comme par exemple les vitamines.

Les protéines ou peptides thérapeutiques utilisés dans ces formulations sont  
 10 choisis préférentiellement parmi la protéine correspondant à l'hormone parathyroïde (PTH), l'hormone de croissance (GH), les interférons  $\alpha$ ,  $\beta$ , ou  $\gamma$ , l'érythropoïétine  $\alpha$  ou  $\beta$  (EPO), le facteur stimulateur de colonies de granulocytes (GCSF), le facteur stimulateur de colonies macrophages de granulocytes (GMSCF), le peptide vasoactif intestinal (VIP), l'hormone libératrice de thyrotropine (CRH), l'arginine vasopressine  
 15 (AVP), l'angiotensine, l'insuline, la somatotropine, l'activateur de tissu plasminogène, les facteurs de coagulations VIII et IX, la glucosylcéramidase, la lénograstine, la molgramostine, la filgrastine, les interleukines, la dornase  $\alpha$ , la PEG-L-asparaginase, la PEG-adenosine deaminase, l'hirudine, l'eptacog  $\alpha$ , les facteurs de croissances nerveuses, l'hormone libératrice d'hormone lutéinisante  
 20 (LHRH), ses dérivés et ses analogues, la somatostatine et ses dérivés, la triptoréline, la bombésine, la calcitonine, le peptide libérateur de gastride, le facteur libérateur d'hormone de croissance et l'amyline.

Les particules contenant un principe actif issues d'un procédé de précipitation ou de cristallisation à l'aide de solvants organiques ou de fluides à pression  
 25 supercritique, de lyophilisation, de nébulisation, de séchage, de broyage, susceptibles d'être dispersées dans le fluide à pression supercritique, sont préférentiellement constituées d'une matrice solide contenant le principe actif, notamment une protéine ou un peptide thérapeutique et éventuellement des excipients comme des agents de charge, des stabilisants de la protéine, des cryoprotecteurs et des lyoprotecteurs.  
 30 Parmi les excipients, on peut citer de façon non exhaustive, les sels de phosphates et autres composés ioniques, les sucres, les polyols, des protéines de charge comme des

albumines, des surfactants, et toutes autres substances utilisées pour stabiliser des formulations solides de protéines thérapeutiques existantes ou à venir. Ces particules contenant des principes actifs, notamment des protéines ou peptides sont pour la plupart hydrophiles et difficiles à disperser dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

5 La taille des particules dispersées par le procédé objet de l'invention est comprise entre 0,05 µm et 800 µm, et de préférence entre 0,1 µm et 100 µm.

Les copolymères utilisés dans le procédé de l'invention sont des copolymères à blocs composés d'un bloc CO<sub>2</sub>-phile et d'un bloc hydrophile non ionique. La nature des deux blocs, et leur rapport molaire, sont ajustables et permettent une  
10 modulation fine des propriétés de stabilisation de dispersions de solides ou de liquides hydrophiles non solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

Le bloc CO<sub>2</sub>-phile des copolymères à blocs est choisi avantageusement parmi les polymères solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

Les copolymères à blocs sont avantageusement des copolymères solubles  
15 dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. La solubilité minimale des copolymères à blocs selon l'invention est de 0,05% m/m, et de préférence de 0,2% m/m, à au moins une température définie et comprise entre 0°C et 100°C, de préférence définie et comprise entre 15°C et 60°C, et à au moins une pression définie et supérieure à la pression critique du CO<sub>2</sub>, de préférence inférieure à 70 MPa et encore plus  
20 préférentiellement inférieure à 30 MPa.

---

La masse molaire des copolymères à blocs objets de l'invention et le rapport molaire des deux blocs CO<sub>2</sub>-philes et hydrophiles doivent être choisis de manière à donner au copolymère une solubilité suffisante dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique et avantageuse pour le procédé objet de l'invention, dans des conditions de  
25 température et de pression avantageuses techniquement et économiquement et permettant la mise en œuvre de substances fragiles comme les principes actifs pharmaceutiques.

La masse molaire et le rapport molaire sont également choisis pour obtenir les propriétés de stabilisation de dispersions désirées. Sur ces considérations de  
30 solubilité et de stabilisation de dispersions, il a été trouvé dans le cadre de la présente invention que la masse molaire moyenne en nombre (Mn) du copolymère doit être

choisie entre 1 000 et 200 000 g/mol et plus particulièrement entre 4 000 et 50 000 g/mol. La masse molaire moyenne en nombre du bloc hydrophile est comprise entre 500 et 20 000 g/mol et préférentiellement entre 1 000 et 10 000 g/mol. Le rapport massique du bloc CO<sub>2</sub>-phile sur le bloc hydrophile, défini comme le rapport des masses molaires moyennes en nombre, est compris entre 1 et 50, et préférentiellement entre 1 et 20.

Parmi les polymère solubles dans le CO<sub>2</sub> utilisés dans la synthèse des copolymères à blocs, on peut citer en particulier les polymères fluorés et les poly(siloxanes). Parmi les polymères fluorés, les polymères utilisés sont avantagement choisis parmi les poly(fluoroéthers), les poly(fluoroalkyl méthacrylates), les poly(fluoroalkyl acrylates), et particulièrement les poly(1,1-dihydro-perfluorooctyl acrylates) ou PFOA et les poly(1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylates) ou PFDA.

Le bloc hydrophile non ionique est choisi avantagement parmi les polymères hydrophiles biocompatibles, notamment dans le groupe comprenant les polysaccharides, les polymères cellulosiques hydrophiles, l'alcool polyvinylique, les polyols, les homo- et copolymères d'oxyde d'éthylène. De préférence le bloc hydrophile est un poly(oxyde d'éthylène) ou POE.

Les copolymères à blocs utilisés selon le procédé de l'invention sont avantagement des copolymères à blocs composés d'un bloc poly(1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylate) et d'un bloc poly(oxyde d'éthylène), soit des copolymères à blocs du type POE-b-PFDA.

La synthèse de ces copolymères est effectuée par toute voie synthétique adaptée et offrant l'accès à la composition désirée du copolymère en terme de nature des blocs CO<sub>2</sub>-philes et hydrophiles, de masse molaire et de rapport molaire des deux blocs. La synthèse s'effectue de préférence par un procédé de télomérisation radicalaire conventionnelle.

Les copolymères peuvent être purifiés après synthèse par l'ensemble des procédés couramment utilisés à cet effet comme les précipitations, les purifications par chromatographie, et de préférence par extraction ou fractionnement à l'aide de CO<sub>2</sub> à pression supercritique en raison de leur solubilité intrinsèque dans ce milieu.

Cette extraction utilise les dispositifs classiques d'extraction et fractionnement par fluide supercritique discontinus ou continus.

La dispersion de substances hydrophiles est effectuée par tout moyen couramment utilisé pour provoquer la dispersion de substances solides ou liquides dans un fluide. Dans le cas de dispersions de particules solides, les moyens de dispersion préférés pour la présente invention sont l'agitation par usage d'un mobile en rotation et la fluidisation par usage d'un lit fluidisé par du CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

L'usage de ces copolymères à blocs est particulièrement bénéfique dans les procédés de revêtements ou de modification de substances dispersées dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Ces procédés peuvent en effet être améliorés par une stabilisation de la dispersion, limitant les phénomènes d'agrégation.

L'invention est donc particulièrement utile dans les procédés d'encapsulation de particules d'intérêt pharmaceutique, destinés par exemple à améliorer le comportement rhéologique des poudres, à améliorer la stabilité de la formulation, à modifier leurs propriétés de surface, ou à leur conférer des propriétés de libération contrôlée.

La présente invention est particulièrement adaptée aux procédés de revêtement de particules dispersées dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique, comme le procédé décrit dans le brevet EP 0 784 506 B1 où une modification contrôlée de la température et/ou de la pression du CO<sub>2</sub> à pression supercritique permet le dépôt contrôlé d'un agent de revêtement soluble dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Les copolymères à blocs sont alors utilisés principalement en tant que surfactants permettant la stabilisation de la dispersion et éventuellement comme agents de revêtement, seuls ou en mélange avec d'autres agents de revêtement.

La présente invention permet aussi de former et de stabiliser des émulsions d'eau ou de solutions aqueuses dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Les procédés utilisant une étape nécessitant la stabilisation d'émulsions de solutions aqueuses dans un solvant organique, comme par exemple la formation d'hydrogels en émulsion ou dispersion inverse, peuvent avantageusement tirer profit de la présente invention qui permet de remplacer les solvants organique par du dioxyde de carbone.

La présente invention a également pour objet les copolymères à blocs composé d'un bloc CO<sub>2</sub>-phile et d'un bloc hydrophile non ionique biocompatible.

Les exemples et les figures 1 à 4 qui suivent illustrent l'invention.

La figure 1 représente l'aspect des particules en microscopie électronique à balayage qui ont été soumises à un procédé d'encapsulation tel que décrit dans l'exemple 1.

La figure 2 représente une photographie d'une émulsion d'une solution aqueuse d'amarante dans le CO<sub>2</sub> supercritique à une température de 40°C et une pression de 30 MPa, obtenue en présence de copolymères à bloc POE-b-PFDA selon le procédé de l'invention.

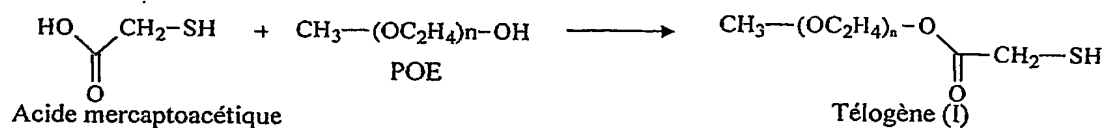
La figure 3 représente une photographie d'un mélange d'une solution aqueuse d'amarante et de CO<sub>2</sub> supercritique à une température de 40°C et une pression de 30 MPa, sous agitation mais en l'absence de copolymère à bloc POE-b-PFDA.

La figure 4 représente une photographie d'une émulsion d'une solution aqueuse d'amarante dans le CO<sub>2</sub> liquide à une température de 20°C et une pression de 30 MPa, obtenue selon le procédé de l'invention.

### Exemple 1: Synthèse d'un copolymère à bloc POE-b-PFDA

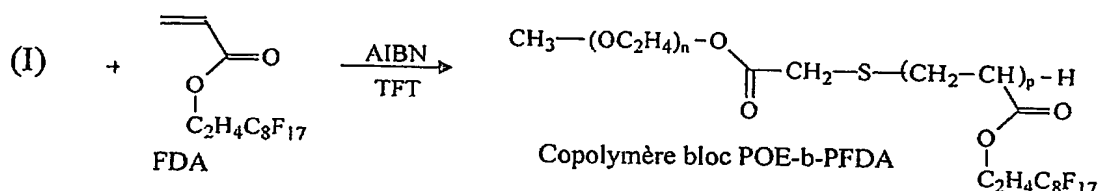
Cet exemple décrit la synthèse d'un copolymère à blocs composé d'un bloc poly(oxyde d'éthylène) de masse molaire moyenne en nombre (M<sub>n</sub>) 2 000 g/mol (POE 2000) et d'un bloc poly(1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylate) (PFDA), soit un copolymère dibloc du type POE-b-PFDA. La synthèse est effectuée par télomérisation radicalaire conventionnelle.

Dans une première étape, on synthétise un télogène macromoléculaire (I) à partir du POE 2000.



Dans un deuxième temps, on effectue la télomérisation de l'acrylate fluoré 1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylate (FDA) en présence du télogène (I) pour former le copolymère à blocs.





### 1.1. Synthèse du télogène macromoléculaire (I)

5 Dans un tricol de 1 litre, équipé d'un Dean Stark, d'un réfrigérant, et d'une olive aimantée, on incorpore 50,03 g (25 mmoles) d'éther monométhylque du poly(oxyde d'éthylène) (Aldrich,  $\overline{M}_n = 2000$  g/mole), et 705,7 g de benzène. On sèche le polymère par entraînement azéotropique, à reflux (100°C en consigne), pendant 5 heures. Ensuite, on ajoute 12,0243 g (127,9 mmoles) d'acide thioglycolique (Acros, 98%,  $M = 92,11$  g/mole), et 127 mg (0,658 mmoles) d'acide para toluène sulfonique monohydraté (Aldrich, 98,5%). On poursuit l'entraînement azéotropique pendant 24 heures en soutirant régulièrement l'eau formée accumulée dans le Dean Stark.

15 En fin de réaction, le milieu est ramené à température ambiante, filtré sur fritté N°4 pour éliminer quelques insolubles, puis concentré à l'évaporateur rotatif à 40°C. On récupère 59,97 g d'un produit visqueux qui cristallise à température ambiante. On le dissout dans 31 g de chloroforme (solution très visqueuse). On précipite cette solution, sous agitation, dans 4 litres d'éther éthylique préalablement refroidi au congélateur. On filtre sur fritté N°4 et on lave la galette dans le fritté avec encore 1 litre d'éther éthylique à température ambiante. On récupère 55,01 g de poudre blanche qu'on sèche 2 heures sous vide ( $2 \cdot 10^{-2}$  mmHg) à 35-40°C. On obtient finalement 45,87 g de poudre blanche (rendement = 88%).

### 1.2. Synthèse d'un copolymère POE-b-PFDA

25 Le monomère acrylate fluoré 1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylate (FDA) est distillé sous vide ( $P = 3 \cdot 10^{-2}$  mmHg,  $T_{eb} = 70-71^\circ\text{C}$ ). Le 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN) (Fluka, 98%) est recristallisé dans le méthanol. Le solvant trifluorotoluène (Lancaster, 99%) (TFT) est distillé sous pression partielle (20 mm Hg). La polymérisation est effectuée sous argon, dans un réacteur Schlenk

bicol de 100 mL, fermé avec 2 bouchons à jupe rabattable, sous agitation magnétique (olive aimantée).

Le monomère fluoré, placé dans un pilulier, est désoxygéné par bullage à l'argon (pendant 45 min.). L'agent de transfert et l'amorceur sont placés en solution dans le trifluorotoluène, dans le Schlenk (léger chauffage au pistolet chauffant pour solubiliser le télogène). La solution est désoxygénée par bullage à l'argon (45 min.). Le monomère est ajouté, sous balayage d'argon, dans le Schlenk à l'aide d'une seringue en verre. Le Schlenk est fermé, puis placé dans un bain d'huile à la température voulue (65°C ou 80°C). Le milieu initial, trouble après l'addition du monomère, devient limpide à chaud et sous agitation après environ 1 minute. Des prélèvements sont effectués à travers le septum avec une seringue en verre, l'avancement de la réaction est suivi par RMN  $^1\text{H}$ , et la polymérisation est stoppée par ajout d'hydroquinone. Le produit final est précipité dans l'éther éthylique (large excès), séché sous vide à 30-35°C, puis conservé au frais.

Un premier copolymère, nommé P39, est synthétisé avec les conditions suivantes:

FDA:  $m = 10,0522 \text{ g}$

TFT:  $m = 40,0 \text{ g}$  (distillé)

AIBN:  $m = 4,9 \text{ mg}$

Télogène (I):  $m = 3,3194 \text{ g}$

$T = 65^\circ\text{C}$

$t_0 + 21\text{h}50$  : arrêt de la réaction

En raison de sa non solubilité dans les solvants usuels, le copolymère ne peut être analysé sans ambiguïté par chromatographie d'exclusion stérique. Des analyses effectuées par RMN  $^1\text{H}$  (après dissolution dans un mélange TFT/fréon 113), et par analyse élémentaire, permettent la détermination du rapport molaire du composant  $\text{CO}_2$ -phile (FDA) sur le composant hydrophile (POE). Considérant que le produit réactionnel peut contenir des homopolymères POE, ce rapport est la limite inférieure du rapport moyen des composants  $\text{CO}_2$ -philes sur les composants hydrophiles du copolymère à blocs formé lors de la synthèse. Les analyses montrent que le produit de réaction est composé majoritairement d'un copolymère dibloc POE-b-PFDA

constitué d'un bloc hydrophile POE de masse molaire moyenne en nombre ( $M_n$ ) 2090 g/mol provenant du télogène (I) et d'un bloc CO<sub>2</sub>-phile PFDA d'une masse molaire moyenne en nombre égale ou supérieure à 4869 g/mol. Le rapport des blocs CO<sub>2</sub>-phile et hydrophile, calculé comme le rapport de la masse molaire  $M_n$  du bloc PFDA CO<sub>2</sub>-phile sur la masse molaire  $M_n$  du bloc POE hydrophile est donc pour ce polymère P39 égal ou supérieur à 2,4.

### Exemple 2: Synthèse d'une série de copolymère à blocs POE-b-PFDA

Une première série de copolymères à blocs POE-b-PFDA, nommés P43, P44, P49, P50, P52, basée sur le télogène (I) dérivé du POE 2000 a été synthétisée de manière à obtenir une gamme de copolymères à blocs de rapports massiques CO<sub>2</sub>-phile sur hydrophile croissants. La composition du copolymère est modulée en variant la masse du monomère FDA et la masse du télogène engagées dans la synthèse. Une seconde série de copolymères à blocs POE-b-PFDA obtenus par télomérisation radicalaire conventionnelle à partir d'un télogène dérivé d'un POE de masse molaire  $M_n$  5 000 g/mol, par une voie de synthèse analogue à celle décrite dans l'exemple 1, a également été synthétisée. Ils sont dénommés P45 et P48. Le tableau 1 présente la valeur moyenne inférieure du rapport massique CO<sub>2</sub>-phile sur hydrophile de ces copolymères, comme décrit dans l'exemple 1.

20

25

Tableau 1

Copolymère	Limite inférieure du rapport PFDA/POE
P43	6,4
P44	7,2
P49	37,8

P50	28
P52	18,9
P45	1,2
P48	10,2

### Exemple 3: Détermination de la solubilité des copolymères dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique

5 La solubilité des copolymères décrit dans les exemples 1 et 2 est évaluée à l'aide d'un appareil décrit en détail dans le brevet EP 0 784 506 B1. Cet appareil est constitué d'un réacteur d'une pression d'utilisation maximale de 30 MPa et d'un volume d'un litre, équipé d'un dispositif d'agitation rotatif à entraînement magnétique. Le réacteur est équipé d'une double enveloppe à circulation d'eau pour

10 assurer la régulation de la température. Une masse connue de copolymère est introduite dans un filtre papier de porosité 2 µm préalablement pesé. Le filtre est alors replié et fixé solidement sur la partie supérieure de l'axe d'entraînement du dispositif d'agitation de manière à assurer un confinement mécanique du copolymère dans ce filtre. L'ensemble est placé dans le réacteur. La vitesse d'agitation est fixée à

15 460 tours par minutes. Du dioxyde de carbone est introduit dans le réacteur jusqu'à une pression de 20 MPa à une température de 45°C. Le copolymère est extrait dans ces conditions de température et pression durant une heure. La température du réacteur est alors réduite à environ 23°C en environ 30 minutes. Le réacteur est ensuite graduellement mis à pression atmosphérique par ouverture d'une vanne

20 micrométrique permettant une circulation du dioxyde de carbone vers une ligne d'évent à pression atmosphérique. Après ouverture du réacteur, le filtre est récupéré et pesé de manière à calculer la masse de la fraction solubilisée dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique. Le tableau 2 regroupe les résultats des mesures de solubilité pour les copolymères décrits dans les exemples 1 et 2.

Tableau 2

Fraction solubilisée à 45°C et 20 MPa.

Copolymère	Prise d'essai (mg)	Fraction solubilisée (%)
P39	502,72	66,3
P43	971,28	85,3
P44	998,61	90,4
P52	982,92	94,1
P50	996,38	76
P49	974,44	92,4
P45	988,06	69,2
P48	976,54	72,6

Ce dispositif de mesure de la solubilité dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique est utilisé en routine par le demandeur. Considérant que, lors de la réduction de pouvoir solvant du fluide, une partie de l'agent de revêtement solubilisé se dépose sur les surfaces du filtre, une masse extraite de l'ordre de 90% est couramment observée pour des composés connus comme totalement solubles dans le fluide à pression supercritique. Les copolymères synthétisés dans les exemples 1 et 2 sont donc solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

#### 10 Exemple 4: Courbe de point trouble d'un copolymère

Afin de quantifier la solubilité des copolymères à bloc POE-b-PFDA dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique, la courbe de point trouble de la fraction extraite du copolymère P44 tel qu'obtenu dans l'exemple 3 a été établie à l'aide d'une cellule optique à volume variable.

15 Le tableau 3 présente les pressions de point trouble à différentes températures et à une fraction massique constante de copolymère de 1,2% par rapport à la masse de CO<sub>2</sub>. A une pression supérieure à la pression de point trouble, il est observé visuellement la solubilité totale de l'échantillon. A une pression inférieure à la pression de point trouble, un trouble est observé visuellement suite à la précipitation du copolymère. Ces résultats confirment la solubilité du copolymère dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

Tableau 3

Température (°C)	Pression (MPa)
65,2	23,23
59,9	22,1
55,2	20,6
49,8	19,1
45	17,6
40,2	15,99
35,3	14,3
30,4	12,65
25,7	10,74
20,5	8,92

5

### Exemple 5 : Dispersion de particules dans le CO<sub>2</sub> supercritique

#### 5.1. Mode opératoire

10 Les propriétés de stabilisation de dispersion de particules hydrophiles solides sont évaluées indirectement dans une expérience d'encapsulation telle que décrite dans le brevet EP 0 784 506 B1.

15 Le copolymère à bloc CO<sub>2</sub>-phile/hydrophile est donc ici utilisé en tant qu'agent de dispersion et en tant qu'agent de revêtement. Le dispositif expérimental est un appareil d'encapsulation à l'aide de CO<sub>2</sub> supercritique similaire à celui utilisé dans l'exemple 3, équipé d'un réacteur d'un volume interne de 125 mL et d'une pression maximale d'utilisation de 30 MPa. Le réacteur est équipé de fenêtres optiques permettant l'observation du milieu à pression supercritique. 50 mg de particules sphériques de silice non greffée d'un diamètre de 50 µm (Nucleodur 100-50, Macherey-Nagel) sont introduits dans le réacteur. 200 mg de copolymère P39, 20 décrit dans l'exemple 1, sont également introduits. Le réacteur est équipé d'une double enveloppe permettant de réguler sa température. Le réacteur est fermé à l'aide d'un couvercle équipé d'un dispositif d'agitation de type ancre. L'agitation est réglée

à 460 tours par minutes. Du dioxyde de carbone est introduit dans le réacteur jusqu'à obtenir une pression de 20 MPa à une température de 45°C. Dans ces conditions, le copolymère est solubilisé. On observe alors une dispersion stable et homogène de particules de silice dans le CO<sub>2</sub> supercritique.

- 5       Après une heure, la température du réacteur est graduellement diminuée à 20°C en environ 50 minutes de manière à provoquer le dépôt du copolymère à la surface des particules. La pression du réacteur est alors diminuée jusqu'à la pression atmosphérique en environ 60 minutes en permettant l'échappement du dioxyde de carbone de manière contrôlée par ouverture d'une vanne micrométrique. Après  
10   ouverture du réacteur, les particules sont récupérées.

## 5.2. Résultats

La figure 1 présente l'aspect des particules récupérées après avoir été soumises à ce procédé d'encapsulation.

- 15       Les particules initiales, qui sont restées individuelles, ont été recouvertes d'une couche homogène du copolymère sur la totalité de leur surface, témoignant de l'exposition de l'ensemble de leur surface à l'agent de revêtement. Aucune agglomération des particules n'est de plus notée. Lors de l'utilisation d'agents de revêtements hydrophobes comme par exemple des triglycérides, un phénomène d'agglomération des particules est couramment observé par le demandeur avec les  
20   mêmes conditions expérimentales.

Ce résultat démontre la capacité du copolymère à bloc POE-b-PFDA P39 à stabiliser une dispersion de particules hydrophiles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.

25

## **Exemple 6: Formation d'émulsions en présence de CO<sub>2</sub> supercritique**

### 6.1. Mode opératoire

L'aptitude des copolymères décrits dans les exemples 1 et 2 à stabiliser une émulsion est évaluée à l'aide d'une cellule d'observation des équilibres de phase à pression supercritique. Cette cellule est composée d'un cylindre en acier inox d'une pression maximale d'utilisation de 50 MPa, et d'un volume variant entre 50 et 64 mL. Le volume interne de la cellule est ajusté par l'intermédiaire d'un piston actionné par de l'azote sous pression. La température du milieu est régulée par circulation d'huile de silicone dans une double enveloppe. Le milieu peut être homogénéisé à l'aide d'un barreau aimanté mis en rotation par agitation magnétique. Le cylindre est équipé de deux fenêtres en saphir disposées en vis à vis. La cellule est éclairé par la fenêtre arrière. Le milieu est observé à travers la fenêtre située en avant du cylindre. 22,5 mL d'une solution aqueuse d'un colorant hydrophile rouge, l'amarante, sont introduits dans le cylindre haute pression. 200 mg du copolymère P44 sont également introduits dans la cellule. Le cylindre est alors fermé à l'aide d'un couvercle équipé du piston de contre pression. Le volume est fixé à 50 mL par l'intermédiaire du piston. La température du milieu est maintenue à 40°C. Le cylindre est purgé à l'aide d'un flux de dioxyde de carbone, puis du dioxyde de carbone est introduit jusqu'à une pression de 30 MPa en maintenant le volume à 50 mL. Lors de l'introduction du dioxyde de carbone, la poudre blanche de copolymère est progressivement solubilisée. Le milieu est alors agité et il se forme une phase dispersée rouge et opaque occupant la totalité du volume du cylindre.

Après 30 minutes, l'agitation est stoppée et un déphasage lent et progressif du système est observé en environ 5 minutes. Un système binaire est alors observé et ne subit pas d'évolution sur une durée de 2 heures. La partie inférieure de la cellule est rouge et opaque. La partie supérieure est rouge et opalescente. Il s'agit d'émulsion dans le CO<sub>2</sub>, stables sans agitation pendant les deux heures de l'expérience.

Pour confirmer le rôle du copolymère dans la formation de cette émulsion, la pression est graduellement diminuée par remontée progressive du piston. Il se produit alors une déstabilisation de l'émulsion et on observe une phase supérieure devenant incolore et translucide et une phase inférieure contenant des agrégats blanc correspondant au copolymère non solubilisé en raison de la diminution du pouvoir solvant du dioxyde supercritique. Une augmentation de pression permet de



solubiliser à nouveau le copolymère et de former à nouveau une émulsion eau dans  $\text{CO}_2$ .

## 6.2. Résultats

La figure 2 représente une photographie du milieu vu depuis la fenêtre avant  
 5 du réacteur. Le copolymère a donc permis de disperser sous forme d'émulsion la solution aqueuse de colorant dans le dioxyde de carbone supercritique à une température de  $40^\circ\text{C}$  et une pression de 30 MPa. Une émulsion composée de gouttelettes de la solution aqueuse du colorant dans le  $\text{CO}_2$  est formée.

## 10 **Exemple 7: Exemple comparatif**

### 7.1. Mode opératoire

La procédure expérimentale décrite dans l'exemple 6 est utilisée, mais seule la solution aqueuse d'amarante et le dioxyde de carbone sont introduits dans la cellule.

15

### 7.2. Résultats

En l'absence de copolymère et après une heure d'agitation, deux phases distinctes sont observées dans la cellule sous agitation (figure 3). La phase dense est translucide et rouge, la phase supérieure est translucide et incolore. Il ne s'est donc ni  
 20 formé d'émulsion ni produit de solubilisation du colorant hydrophile dans le dioxyde de carbone supercritique à une température de  $40^\circ\text{C}$  et une pression de 30 MPa.

Un comportement identique est observé avec un volume de solution aqueuse d'amarante de 7,5mL et du dioxyde de carbone liquide à une température de  $20^\circ\text{C}$  et une pression de 20 MPa.

25 Cet exemple comparatif confirme le rôle du copolymère à blocs POE-b-PFDA dans la formation d'émulsion eau dans  $\text{CO}_2$  à pression supercritique.

## **Exemple 8 : Formation d'une émulsion dans le $\text{CO}_2$ liquide à pression supercritique**

30 Une expérience similaire à celle de l'exemple 6 est menée, à l'exception de la température qui est fixée à  $20^\circ\text{C}$  et du volume de solution aqueuse fixé à 7,5 mL.

A cette température, et dans les conditions de pression utilisées, le dioxyde de carbone à pression supercritique se trouve à l'état liquide. A 20°C et 30 MPa, une émulsion d'eau dans le CO<sub>2</sub> liquide est formée après agitation comme présentée dans la figure 4.

- 5 Le copolymère à blocs POE-b-PFDA a donc permis de former une émulsion d'une solution aqueuse dans le CO<sub>2</sub> liquide à pression supercritique.

## REVENDICATIONS

1. Procédé de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide à pression supercritique par addition d'un surfactant, ledit surfactant étant un copolymère à blocs comprenant un bloc CO<sub>2</sub>-phile et un bloc hydrophile non ionique.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le fluide à pression supercritique est du CO<sub>2</sub>.
3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le fluide à pression supercritique est du CO<sub>2</sub> contenant un entraîneur dans une quantité inférieure à 5 %.
4. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le bloc CO<sub>2</sub>-phile est choisi dans le groupe comprenant les polymères solubles dans le CO<sub>2</sub> à pression supercritique.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les copolymères à blocs sont des copolymères solubles dans le CO<sub>2</sub> supercritique.
6. Procédé selon la revendication 5, caractérisé en ce que la solubilité minimale des copolymères à blocs est de 0,05% m/m, et de préférence de 0,2% m/m, à au moins une température définie et comprise entre 0°C et 100°C, de préférence définie et comprise entre 15°C et 60°C, et à au moins une pression définie et supérieure à la pression critique du CO<sub>2</sub>, de préférence inférieure à 70 MPa, et encore plus préférentiellement inférieure à 30 MPa.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisé en ce que la masse molaire moyenne en nombre du copolymère à blocs est choisie entre 1 000 et 200 000 g/mol, de préférence entre 4 000 et 50 000 g/mol.
8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que la masse molaire moyenne en nombre du bloc hydrophile est comprise entre 500 et 20 000 g/mol, de préférence entre 1 000 et 10 000 g/mol.

9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que le rapport massique du bloc CO<sub>2</sub>-phile sur le bloc hydrophile, est compris entre 1 et 50, de préférence entre 1 et 20.
10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que le bloc CO<sub>2</sub>-phile du copolymère à blocs est choisi dans le groupe comprenant les polymères fluorés et les poly(siloxanes)
11. Procédé selon la revendication 10 caractérisé en ce que le polymère fluoré est choisi dans le groupe comprenant les poly(fluoroéthers) et les poly(fluoroalkyl acrylates) et les poly(fluoroalkyl méthacrylates).
12. Procédé selon la revendication 11 caractérisé en ce que les poly(fluoroalkyl acrylates) sont les poly(1,1-dihydroperfluorooctylacrylates) et les poly(1,1,2,2-tétrahydroperfluorodécyl acrylates).
13. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le bloc hydrophile non ionique est choisi parmi les polymères hydrophiles biocompatibles.
14. Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que les polymères hydrophiles biocompatibles sont choisis dans le groupe comprenant les polysaccharides, les polymères cellulosiques hydrophiles, l'alcool polyvinylique, les polyols, les homo et copolymères d'oxyde d'éthylène.
15. Procédé selon la revendication 14 caractérisé en ce que le bloc hydrophile est un poly(oxyde d'éthylène).
16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que les copolymères à blocs sont composés d'un bloc poly(1,1,2,2-tétrahydroperfluorodécyl acrylates) et d'un bloc poly(oxyde d'éthylène), soit des copolymères à blocs du type POE-b-PFDA.
17. Procédé d'encapsulation d'un principe actif comprenant une étape de dispersion réalisée par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 16.
18. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce que les substances hydrosolubles ou hydrophiles contiennent un principe actif, choisi dans le groupe comprenant (i) les produits pharmaceutiques, notamment les analgésiques, les antipyrétiques, l'aspirine et ses dérivés, les antibiotiques, les

- anti-inflammatoires, les antiulcéreux, les antihypertenseurs, les neuroleptiques, les antidépresseurs, les oligonucléotides présentant une activité thérapeutique, les peptides présentant une activité thérapeutique et les protéines présentant une activité thérapeutique, (ii) les produits cosmétiques, notamment les autobronzants et les anti-UV, (iii) les produits alimentaires comme par exemple les vitamines.
- 5
19. Procédé selon la revendication 18 caractérisé en ce que les protéines ou les peptides thérapeutiques sont choisis dans le groupe comprenant la protéine correspondant à l'hormone parathyroïde, l'hormone de croissance, les interférons  $\alpha$ ,  $\beta$ , ou  $\gamma$ , l'érythropoïétine  $\alpha$  ou  $\beta$  (EPO), le facteur stimulateur de colonies de granulocytes (GCSF), le facteur stimulateur de colonies macrophages de granulocytes (GMSCF), le peptide vasoactif intestinal (VIP), l'hormone libératrice de thyrotropine (CRH), l'arginine vasopressine (AVP), l'angiotensine, l'insuline, la somatotropine, l'activateur de tissu plasminogène, les facteurs de coagulations VIII et IX, la glucosylcéramidase, la lénograstine, la molgramostine, la filgrastine, les interleukines, la dornase  $\alpha$ , la PEG-L-asparaginase, la PEG-adenosine deaminase, l'hirudine, l'éptacog  $\alpha$ , les facteurs de croissances nerveuses, l'hormone libératrice d'hormone lutéinisante (LHRH), ses dérivés et ses analogues, la somatostatine et ses dérivés, la triptoréline, la bombésine, la calcitonine, le peptide libérateur de gastride, le facteur libérateur d'hormone de croissance et l'amyline.
- 10
- 15
- 20
- 
20. Copolymère à blocs comprenant un bloc CO<sub>2</sub>-phile et un bloc hydrophile non ionique biocompatible.
- 25
21. Copolymère à blocs selon la revendication 20, caractérisé en ce que le bloc CO<sub>2</sub>-phile est choisi dans le groupe comprenant des polymères fluorés et les poly(siloxanes).
- 30
22. Copolymère à blocs selon la revendication 21, caractérisé en ce que le polymère fluoré est choisi dans le groupe comprenant les poly(fluoroéthers), les poly(fluoroalkyl méthacrylates) et les poly(fluoroalkyl acrylates).

23. Copolymère à blocs selon la revendication 22, caractérisé en ce que les poly(fluoroalkylacrylates) sont des poly(1,1-dihydro-perfluorooctyl acrylates) et plus particulièrement des poly(1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylates).
- 5 24. Copolymère à blocs selon la revendication 18, caractérisé en ce que le bloc hydrophile non ionique biocompatible est choisi dans le groupe comprenant les polysaccharides, les polymères cellulosiques hydrophiles, l'alcool polyvinylique, les polyols, les homo- et copolymères d'oxyde d'éthylène.
25. Copolymère à blocs selon la revendication 24, caractérisé en ce que le bloc hydrophile est un poly(oxyde d'éthylène).
- 10 26. Copolymères à blocs selon la revendication 25, caractérisés en ce qu'ils sont composés d'un bloc poly(1,1,2,2-tétrahydro-perfluorodécyl acrylates) et d'un bloc poly(oxyde d'éthylène), soit des copolymères à blocs du type POE-b-PFDA.

1/4

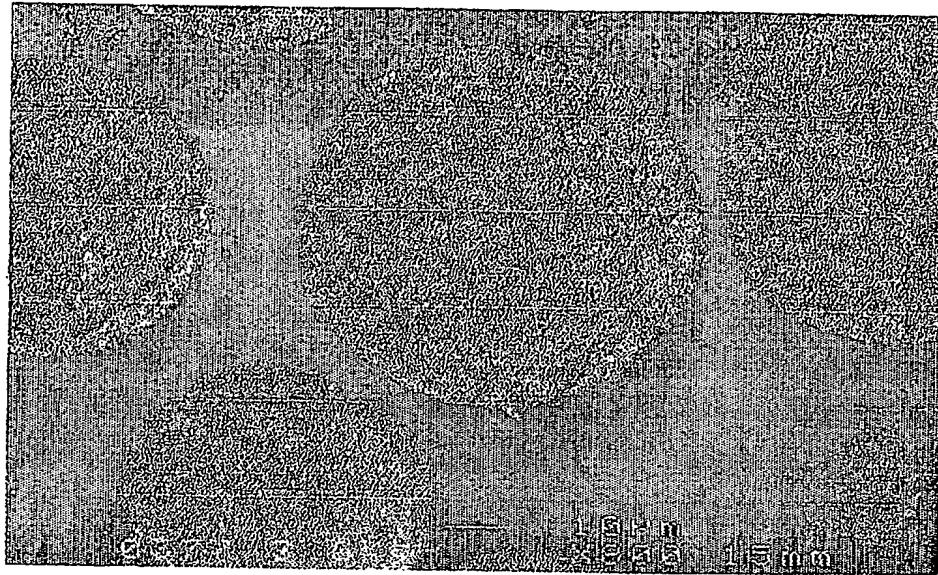
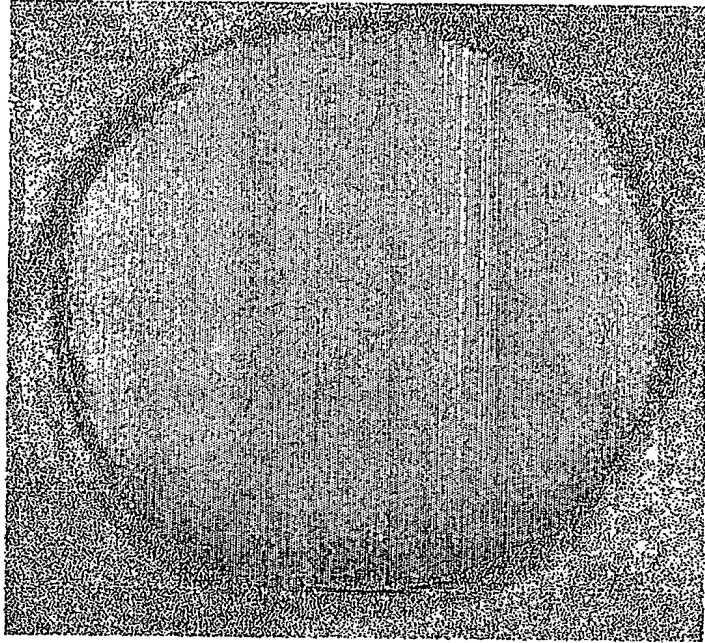


Figure 1

2/4



**Figure 2**



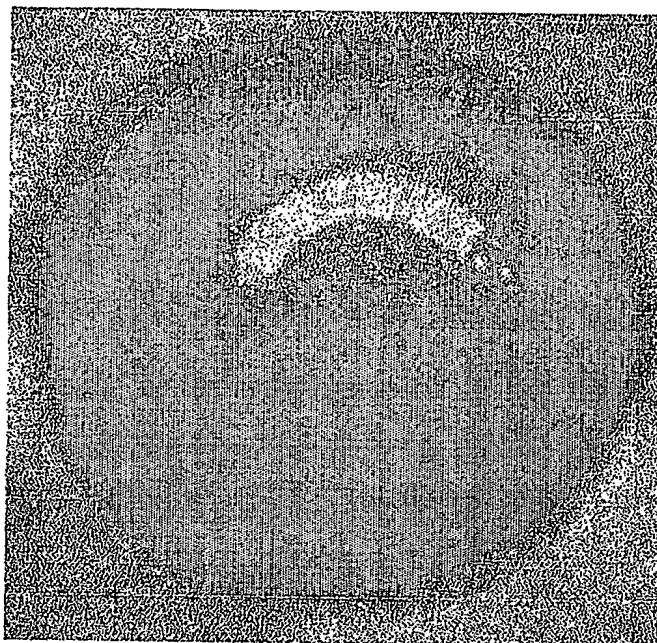


Figure 3

---

4/4

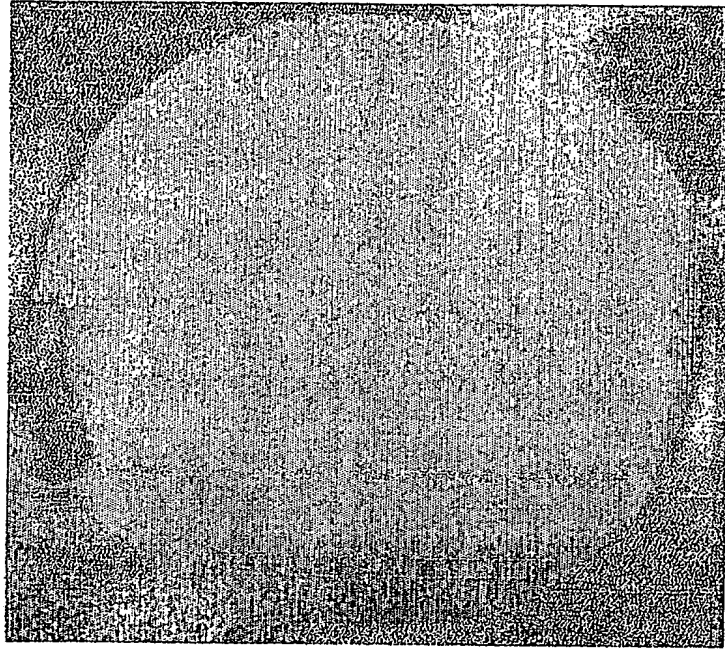


Figure 4

**DÉPARTEMENT DES BREVETS**

26 bis, rue de Saint Pétersbourg

75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1... 2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>	240537 FA
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>	0305108

**TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)**

procédé de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide à pression supercritique

**LE(S) DEMANDEUR(S) :**

ETHYPHARM : 21, rue Saint-Mathieu 78550 HOUDAN - FRANCE

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) 3, rue Michel Ange, 75016 PARIS FRANCE

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<b>1</b>	<b>Nom</b>	RICHARD Joël	
	<b>Prénoms</b>		
	<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	30, rue du Ruau
		<b>Code postal et ville</b>	49400 VARRAINS FR
	<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>		
<b>2</b>	<b>Nom</b>	DESCHAMPS Frantz	
	<b>Prénoms</b>		
	<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	13, rue Auguste Michel
		<b>Code postal et ville</b>	49100 ANGERS FR
	<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>		
<b>3</b>	<b>Nom</b>	LACROIX-DESMAZES Patrick	
	<b>Prénoms</b>		
	<b>Adresse</b>	<b>Rue</b>	8, rue Comte Bernard
		<b>Code postal et ville</b>	34090 MONTPELLIER FR
	<b>Société d'appartenance (facultatif)</b>		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

**DATE ET SIGNATURE(S)**  
**DU (DES) DEMANDEUR(S)**  
**OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

*[Signature]*

92-1001

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 2.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

**Vos références pour ce dossier (facultatif)**

**N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL**

**TITRE DE L'INVENTION** (200 caractères ou espaces maximum)  
0305108

procédé de dispersion de substances hydrosolubles ou hydrophiles dans un fluide à pression supercritique

**LE(S) DEMANDEUR(S) :**

ETHYPHARM : 21, rue Saint-Mathieu 78550 HOUDAN - FRANCE

CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) 3, rue Michel Ange, 75016 PARIS FRANCE

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<b>1</b> Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	BOUTEVIN Bernard
	Code postal et ville	1. rue Anselme Mathieu
Société d'appartenance (facultatif)		34090 MONTPELLIER FR
<b>2</b> Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>3</b> Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

**DATE ET SIGNATURE(S)**  
**DU (DES) DEMANDEUR(S)**  
**OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

*[Signature]*

92-1001

---

**PCT/FR2004/000994**

